

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-91135

⑤ Int.Cl.⁴
A 61 K 45/02識別記号
A B G庁内整理番号
7043-4C

④ 公開 昭和61年(1986)5月9日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

- ⑬ 発明の名称 γ-インタフェロン(γ-IFN)を含有するリウマチ症治療剤
- ⑭ 特 願 昭60-188689
- ⑮ 出 願 昭60(1985)8月29日
- 優先権主張 ⑯ 1984年10月5日 ⑰ 西ドイツ(DE) ⑱ P3436638.5
- ⑲ 発 明 者 ヨハン フリードリッ ドイツ連邦共和国、デー7901 ヒュッテイヤイム、ハ
ヒ フオン アイヒボ ムランゲン 6番
ルン
- ⑳ 出 願 人 ビオフエロン ビオヒ ドイツ連邦共和国、デー7958 ラウプハイム1、インダ
エミシエ サブスタン ストリエゲビート(無番地)
ツエン ゲゼルシャフ.
ト ミット ベシユレ
ンクテル ハフツング
ウント コムパニー
- ㉑ 代 理 人 弁理士 浜田 治雄
- 最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称
γ-インタフェロン(γ-IFN)を
含有するリウマチ症治療剤
2. 特許請求の範囲
 - (1) γ-インタフェロンを含有するリウマチ
症治療剤。
 - (2) 炎症性リウマチ症を治療する特許請求の
範囲第1項記載の治療剤。
 - (3) 慢性多発関節炎(リウマチ様関節炎)を
治療する特許請求の範囲第2項記載の治療剤。
 - (4) 若年性慢性関節炎を治療する特許請求の範
囲第2項記載の治療剤。
 - (5) 関節奇形性乾癆を治療する特許請求の範囲
第2項記載の治療剤。
 - (6) 関節外リウマチ症(軟部リウマチ症)
を治療する特許請求の範囲第1項記載の治療
剤。
 - (7) 筋肉リウマチ症および上腕肩胛骨関節周
囲炎を治療する特許請求の範囲第6項記載の
治療剤。
 - (8) 変性リウマチ症を治療する特許請求の範
囲第1項記載の治療剤。
 - (9) 紅斑性狼瘡を治療する特許請求の範囲第1
項記載の治療剤。
 - (10) 皮膚筋炎を治療する特許請求の範囲第1項
記載の治療剤。
 - (11) 硬皮症を治療する特許請求の範囲第1項記
載の治療剤。
 - (12) γ-インタフェロンをヒト細胞によりまた
は遺伝子工学的的方法により產生することを特
徴とする特許請求の範囲第1項記載の治療剤。
 - (13) γ-インタフェロン含有治療剤に加え、他
のインタフェロンおよび/または白血球によ
り生成されもしくは遺伝子工学的的方法により
生成された他の細胞媒体をも含有することを
特徴とする特許請求の範囲第1項記載の治療
剤。
 - (14) 静脈内、筋肉内、関節内、関節液内、骨膜
内、皮下、皮内、莖膜内、口経的または局部

的経路にて投与する投与形態であることを特徴とする特許請求の範囲第1項乃至第11項のいずれかに記載の γ -インタフェロン含有治療剤。

(15) ポリペプチド治療剤につき知られた投与形態である特許請求の範囲第14項記載の治療剤。

(16) 投与される個々の投与量が200 国際基準単位 (I. E.) 乃至2,000,000 I. E. (約20 ng ~ 20 mg に相当) の γ -インタフェロンを含有することを特徴とする特許請求の範囲第1項乃至第15項のいずれかに記載の γ -インタフェロンを含有する治療剤。

3. 発明の詳細な説明

(発明の属する技術分野)

本発明は、 γ -インタフェロンを含有するリユーマチ症治療剤に関するものである。

(従来技術とその問題点)

全ての公知インタフェロンは、その構造遺伝子のスクレオチド配列間のみならず、そのアミ

ノ酸配列間の同族性に基づいて3つの群 (すなわち α -IFN、 β -IFNおよび γ -IFNと呼ばれる3つの群) に明確に分類される。

使用する用語は、ジェー・ビルセク (1983) によりアーチベス・オブ・バイロロジー、第77巻、第283 ~ 285 頁に開示された「インタフェロン命名委員会」の最新の提案に示されている。上記の主たる基準に加え、 γ -IFN群を特性化するには、他の両IFN群に対する免疫学的交鎖反応を示さず、かつ α -IFNおよび β -IFNと異なりpH2において生物学的に不安定である点を挙げることができる。

γ -IFNは免疫系のT-リンパ球による複雑な過程でミトゲンまたは特定抗体での刺激に際し1群の他のファクタ (媒体) と共に放出され、したがって同時にリンホキシンとも称せられる。さらに、 γ -IFNを構成的に産生する従来存在する同定されたまたは形質転換された細胞ラインは、たとえばエヌ・フジイ等によりジ

ャーナル・イミヌロジー、第130巻、第1683 - 1686 頁およびエー・ツロトニク等によりジャーナル・イミヌロジー、第131巻、第794 - 800 頁に記載されている。

ヒト粗製 γ -IFNを得るための好適な方法は次のように記載されている。出発物質としては保存血液のリンパ球リッチな血漿フラクション (いわゆる「パフイーコート」) を使用し、これを集めて600 ~ 800 g における適重な遠心分離により血漿残渣から分離する。ベレット化した全白血球を予備加温された媒体中へ細胞5,000,000 個/mlの密度にて懸濁させる。この細胞懸濁物を、それぞれ適当な培養容器においてミトゲン (たとえばフィトヘマグルチニン) およびホルホルエステル (たとえばホルホルミリスチル酢酸) (PMA) の添加後に37℃にて振とう機で70時間培養する。 γ -インタフェロン含有の培養物を遠心分離によって回収し、これを後に使用するまで4℃にて貯蔵することができる。通常、このように得られた調製物は

約10,000国際基準単位の γ -IFNを1 ml当りに含有する。

γ -IFN含有量は、適当な標識細胞 (たとえばWISH) におけるCPE-減少試験により試験ウイルス (たとえば、ネズミのEMC) を用いてナショナル・インスティテュート・オブ・ヘルス (USA) の基準法Gg 23-901-530にしたがい調製物の抗ウイルス活性として測定される。

γ -IFN調製物を得るための他の方法は、ウィ・ケー・イップ等により「感染および免疫」(1981年10月) 第34巻、第131 - 133 頁および米国特許第4,376,821号、第4,376,822号および第4,460,685号各公報に記載されている。

ヒト γ -IFN調製物を得るための他の基本的方法は、適当なベクターによりヒト構造遺伝子を異質宿主細胞に組み込むことからなっている。この組換え遺伝子を、構成的にまたは特定誘発剤の添加の後に宿主細胞により発現させる。

さらに、誘導されうるアミノ酸配列の合成を必然的にもたらしうような明確に規定されたヌクレオチド配列が構造遺伝子において問題となる場合、 γ -IFN分子（すなわち宿主細胞により生成される調製物）は必ずしも天然に生成する γ -IFNとは同一でない。「後処理」により特定作用を得る際のこの変動の可能性は、いわゆる蛋白質設計により拡大され、これにより構造遺伝子は化学的または生化学的な完全合成または改変により変化されうる。

ヒト遺伝子を組み込むための宿主細胞としては、細菌（たとえば、ジー・シモンズ等によりジーン、第28巻、第55-64頁（1984）に記載されたようなイー・コリ）の他に酵母（たとえば、アール・デリック等によりスクレイック・アシッド・リサーチ、第11巻、第1819-1837頁（1983）に記載されたようなサッカロミセス・セレビシー）または真核細胞（たとえば、エス・ジェー・スカヒル等によりプロシーディング・アカデミック・サ

DEAE-セルロース）、

4. 親和性クロマトグラフィー（Con A-セファロースまたはポリ-U-セファロースまたはCu-キレート-セファロース）、
5. 免疫親和性クロマトグラフィー（抗- γ -IFN-セファロース）、
6. HPLC（たとえば逆転相物質）。

対応の方法はワイ・ケー・イップ等によりプロシーディング・ナショナル・アカデミー・サイエンス・USA、第78巻、第1601-1605頁（1981）における「ヒト γ （免疫）インタフェロンの部分精製および特性化」に記載され、或いはデー・ノビック等によりEMBOジャーナル、第2巻、第1527-1530頁（1984）またはドイツ特許第3136166 A1号公報に記載されている。

適当な組み合わせにより電気泳動的な均一性まで精製することが可能であり、その際得られる最高の比活性は100,000,000 ~ 200,000,000 国際基準単位であり、また平均的数値は10,000,000

イエンス・USA、第80巻、第4654-4658頁（1983）或いはビー・ダブリュー・グレー等によりネーチャー、第295巻、第503-508頁（1982）に記載されたような支那ハムスターの卵細胞）を使用することができる。

これら幾つかの系において γ -IFNは培養液中に1 ml当り100,000 国際基準単位以上の濃度まで濃厚化するか、或いは宿主自身において濃厚化して細胞の蛋白質含有量に対し25%まで蓄積する。

上記方法により得られる γ -IFN調製物の濃厚化または精製は、次の方法により個々にまたは組み合わせて行なうことができる：

1. 調節多孔質ガラス（CPG）またはシリカゲル、
2. ゲル透過（たとえばAcA54またはセファセルS200）、
3. イオン交換クロマトグラフィー（CM-セファロースまたはホスフォセルロースまたは

~50,000,000 国際基準単位である。蛋白質1 mg当り100,000 ~ 200,000,000 国際基準単位を含有する（すなわち、1 μ gの活性物質は200,000 国際基準単位までを含有する）通常の調製物が臨床的に使用される。

他のインタフェロンと同様に、 γ -IFNも抗ウイルス、増殖防止および免疫変性の作用を有する物質である。インビトロにおける強力な増殖防止作用に基づき、 α -IFNおよび β -IFNと同様に、これは従来殆んど専ら悪性症状を有する患者においてのみ使用された（ビー・イー・ケイムおよびダブリュー・エー・カーター、「インタフェロンおよびその用途」、スプリングー出版、ベルリン・ハイデルベルグ、ニューヨーク、トーキョー（1984）；イー・デー・デマイヤーおよびエッチ・シエレンケン（Hrsz）、「インタフェロン系の生物学」（1983）、エルセビール・サイエンス出版社、アムステルダム、ニューヨーク、オックスフォード（1983））。

リウマチにおいては運動器官における疼痛および機能障害が問題となる(エッチ・マチエス、「リウマチ質」、グスタフ・フィッシャー出版、ストットガルト、ニューヨーク(1983))。診断-治療-臨床の観点によれば、次のように種々様々である:炎症性リウマチ症、変性リウマチ症および関節外リウマチ症。リウマチ症の病状についてはさらに次のものが挙げられる:全身紅斑性狼瘡、進行性全身硬皮症、皮膚筋炎、結節性動脈周囲炎、尿酸関節炎および石灰性軟骨炎(ダブリュー・ブシレンベル、「クリニッヒエ・ベルテルブーフ」、ワルター・デ・グリッター、ベルリン、ニューヨーク(1982))。炎症性リウマチ症につき挙げられる慢性関節炎の場合、子供や若年層に生ずる形態はしばしば成人におけるものとは異なっている(ビー・エム・アンツェル、「若年性慢性多発関節炎」、Arthr. Rheum. Suppl、第20巻、第176-180頁(1977);エッチ・トルケンプロット、

「若年性慢性関節炎およびその亜型」、Munch. med. Wschr. 第126巻、第1076-1078頁(1984))。

殆んど大抵のリウマチ症患者の病原は明らかでないで、一般に原因療法は使用できない(ケー・クリーガー、「リウマチ学における新たな治療原理」、Munch. med. Wschr. 第126巻、第1084-1086頁(1984))。薬物投与治療においては各種の薬剤が使用され、これらは2つの群に分類することができる。すなわち迅速であるが薬剤が摂取される間のみ作用するたとえばサリチル酸、インドメタシンおよびグルココルチコイドのような対症抗リウマチ剤、および病原を捕えて治療開始後2~3週間で作用が現われるが、その効果が投薬停止後にも数時間持続する、たとえば金塩、D-ペニシリン、クロロキンおよび免疫抑制剤のような基礎抗リウマチ剤である(エッチ・マチエス、アール・シー・バトラーおよびディー・エッチ・ゴッドアルト、「リウマチ様関節

炎の治療における検討」、ランセット、第ii巻、第278-279頁(1984))。

α -IFNを用いて行なわれる治療は、リウマチ様関節炎に対しては無効であった(エー・カジャンダール等、「リウマチ様関節炎のインタフェロン治療」、ランセット、第i巻、第984頁(1979))。この結果は、驚ろくに当たらない。何故なら、リウマチ様関節炎を含め或る種のリウマチ症患者においては、内生インタフェロンが生成され、これは治療上全く作用を示さず、或いはこれら患者の病原につき同罪にさえなりうるからである(ジェー・ジェー・フックス等、「自家免疫病を有する患者の循環系における免疫インタフェロン」、N. Engl. J. Med. 第301巻、第5-8頁(1979);オー・ティー・プレブル等、「全身紅斑性狼瘡:酸感受性の異常白血球インタフェロンのヒト血清における存在」、サイエンス、第216巻、第429-431頁(1982);エム・デグレ等、「リウマチ

様関節炎および関連障害における血清および滑液中の免疫インタフェロン」、アニュアル・リウマティック・ディスクッション、第42巻、第672-676頁(1983);エー・エム・アービンおよびジェー・ジェー・ミラー、「若年性関節炎を有する患者からの血清および滑液における酸感受性の α -インタフェロン」、アルスリチス・アンド・リウマチズム、第27巻、第582-585頁(1984);ティー・オー・ローゼンバッハ等、「インタフェロンは実験滑膜炎を惹起し、ヒトにおける自家免疫病を誘発する」、クリニカル・リウマトロジ-、第3巻、第361-364頁(1984))。

幾つかの臨床検査において、種々のリウマチ症患者の治療に際し、天然 α -インタフェロンのみならず組換 α -インタフェロンを含有する調製物も少量注射すると疼痛を持続的に除去すると共に、患者の運動性を著しく改善することが予期せずに見い出された。 α -インタフェロンは、炎症性リウマチ症(実施例1~3)、

関節外リウマチ症（実施例4および5）および変性リウマチ症（実施例6）において治療上有効であった。従来臨床上確認されたインタフェロンの作用からは推測されず、かつこの種の病気においてインタフェロンは逆作用があるとも見られていたので、上記効果は驚異的である。

天然 γ -IFNおよび組換 γ -IFNは次のように投与することができる。丸薬として、或いは24時間までの持続滲流としての静脈内投与、筋肉内（脊髄内および関節周囲を含む）、滑液内、関節内、骨膜内、皮下、皮内、莖膜内、経口もしくは局所的な経路で、たとえば軟膏もしくはゲル基剤において皮膚への塗布或いは皮膚中への浸透により投与することができる。これら投与形態において、さらに当業者に周知された投与形態物を使用することもできる。

全ての投与に際し、患者の症状程度にしたがい毎日または数日にわたり1回もしくは数回に分割して、200 国際単位 (I.E.) ~ 2,000,000

国際単位の量で投与される。数日間の投与に対しては1回もしくはそれ以上の投与量は次のように投与することができる：

- (a) 毎日連続して、
- (b) 2~6日間全部、
- (c) 1週間に1回、
- (d) 2~4週間全部、
- (e) 1ヶ月に1回、または
- (f) 疼痛が発生した都度。

実際の使用については、たとえば20,000~2,000,000 I.E. (すなわち約2~200 μ g) の γ -IFNという少量の投与量による試料から開始することが推奨される。

γ -インタフェロン調製物の効果を高めるには、次の物質をさらに添加することができる：

- (a) 他のインタフェロンおよび/または白血球により生成されもしくは遺伝子工学法により生成された他の細胞媒体、
 - (b) 従来治療に使用されている抗リウマチ剤。
- 各種投薬形態物を作成するには、当業者に周

知の助剤が使用される。

(発明の実施例)

以下、実施例により本発明を説明する。

実施例 1

患者： Lu. 男性。

診断： 10年間以上にわたる重症の慢性多発関節炎。手および足における変形。臨床検査の際運動性なし。従来疼痛の改善全くなし。

物質： ヒト白血球からのヒト γ -IFN製剤。

投与方法： 皮下

療法：	治療日	投与量
	1.	0.1×10^6 I.E.
	2.	0.5×10^6 I.E.
	3.	0.5×10^6 I.E.
	4.	1.0×10^6 I.E.
	5.	1.0×10^6 I.E.
	8.	1.5×10^6 I.E.
	9.	1.5×10^6 I.E.
	10.	1.5×10^6 I.E.

11. 1.5×10^6 I.E.

結果： 治療6日目に下肢における疼痛の相当な改善が示された。治療11日以降、患者は完全に疼痛がなくなった。患者は歩行可能となり、かつ階段を昇ることさえできた。打痛性は消失した。

実施例 2

患者： Zi. 男性。

診断： 両手における変形を伴う重症の慢性多発関節炎。

物質： ヒト白血球からのヒト γ -IFN製剤。

投与方法： 皮下

療法：	治療日	投与量
	1.	0.5×10^6 I.E.
	2.	0.5×10^6 I.E.
	3.	0.5×10^6 I.E.
	4.	0.5×10^6 I.E.
	5.	0.5×10^6 I.E.
	8.	1.0×10^6 I.E.

9. 1.0×10^6 I.E.10. 1.0×10^6 I.E.

結果: 0.5×10^6 I.E.による治療で疼痛の相当な改善が表われ、 1.0×10^6 I.E.による治療で患者は完全に疼痛がなくなった。患者は治療の開始に際し最高4分間にわたり車椅子で歩行可能となった。治療9日目以降、 2×20 分間にわたり可能となった。患者は回復を自覚し、かつもはやコーチゾンを必要としなかった。患者は治療開始後17日目に臨床から解放された。この患者は退院日に疼痛がなくなり、その運動性は確実となり、関節にはもはや打痛性が全く存在しなかった。

実施例 3

患者: I.J5. 女性。

診断: 血清陰性のリウマチ性多発関節炎。
貧血、肝臓の局部的結節増殖。

肉内注射するようになった。患者はこの薬剤に良好に耐え、それ以来再び疼痛がなくなった。

実施例 4

患者: H. L. 女性。

診断: 4年間にわたる確実なリウマチ様関節炎。手、腰、膝、踝関節および指関節に疼痛あり。患者は金およびブレドニゾロンに対し感受性なし。

物質: イー・コリからのヒト γ -I F N製剤。

投与: 皮下

投与量: 治療開始として毎日2回の $250 \mu\text{g}$ 。
持続治療としての毎日2回の $50 \mu\text{g}$ 。

結果: 治療5日後に患者は疼痛がなくなり、かつ運動性が自由となった。治療を継続すると、リウマチ様関節炎の臨床成績が相当に改善され、かつ持続された。患者は疼痛なしの状態を維持した。

物質: イー・コリからのヒト γ -I F N製剤。

投与方法: 筋肉内

療法: 治療日

投与量

1.	100 μg 活性物質
2.	100 μg 活性物質
3.	100 μg 活性物質
4.	100 μg 活性物質
5.	100 μg 活性物質
6.	100 μg 活性物質
7.	100 μg 活性物質
8.	100 μg 活性物質
11.	175 μg 活性物質
12.	175 μg 活性物質
13.	50 μg 活性物質
14.	50 μg 活性物質

結果: 治療初日目に疼痛が強くなった後、患者は治療4日目に初めて疼痛がなくなった。治療をさらに続けると、疼痛はさらに短時間となった。間もなく患者には毎週1回 $10 \mu\text{g}$ の活性物質を筋

実施例 5

患者: W. D. 女性。

診断: 1週間前から上腕肩甲骨関節周囲炎。

物質: ヒト白血球からのヒト γ -I F N製剤。

投与方法および療法:

1日1回皮下 (0.5×10^6 I.E.)

結果: 患者は数分間以内に疼痛がなくなった。
それ以来、疼痛はもはや生じなかった。

実施例 6

患者: L. L. 男性。

診断: 座骨神経痛 L_5/S_1 右側。3週間前から骨多孔症。

物質: ヒト白血球からのヒト γ -I F N製剤。

投与方法: 脊椎旁

療法: 治療日

投与量

1.	0.5×10^6	I.E.
21.	0.5×10^6	I.E.

結果: 最初の注射以後、患者は5日間にわたり第2回の注射から現在まで(最初の

治療日から9ヶ月) 疼痛がなかった。

特許出願人

ビオフィェロン ビオヒェミシエ
サブスタンツェン ゲゼルシャフト
ミット ベシユレンクテル ハフツング
ウント ゴムバニエ

出願人代理人 弁理士 浜 田 治 雄



第1頁の続き

優先権主張

⑫1985年6月18日⑬イギリス(GB)⑭85107490.6

⑭発明者

フランツ リンク ドイツ連邦共和国、デー8403 バッド アツバッツハ、ア
ム コーレンシャクト 5番

⑭発明者

ハンス ヨアヒム オ ドイツ連邦共和国、デー7959 バルグリーデン、バルグ
ベルト シュトラーセ 3番